

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УО «ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ДОСТИЖЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ, КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ И ФАРМАЦИИ

Материалы 67-ой научной сессии сотрудников университета

2-3 февраля 2012 года

УДК 616+615.1+378
ББК 5Я431-52.82я431
Д 70

Редактор:

Профессор, доктор медицинских наук В.П. Дейкало

Заместитель редактора:

доцент, кандидат медицинских наук С.А. Сушков

Редакционный совет:

Профессор В.Я. Бекиш, д.ф.н. Г.Н. Бузук, профессор В.С. Глушанко, профессор С.Н. Занько, профессор В.И. Козловский, профессор Н.Ю. Коневалова, д.п.н. З.С. Кунцевич, профессор Н.Г. Луд, д.м.н. Л.М. Немцов, профессор М.А. Никольский, профессор В.И. Новикова, профессор В.П. Подпалов, профессор М.Г. Сачек, профессор В.М. Семенов, профессор А.Н. Щупакова, доцент Ю.В. Алексеенко, доцент С.А. Кабанова, доцент Л.Е. Криштопов, доцент С.П. Кулик, доцент П.С. Васильков, доцент И.А. Флоряну.

Д 70 Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации.
Материалы 67-й научной сессии сотрудников университета. – Витебск:
ВГМУ, 2012. – 521 с.

ISBN 978-985-466-518-4

Представленные в рецензируемом сборнике материалы посвящены проблемам биологии, медицины, фармации, организации здравоохранения, а также вопросам социально-гуманитарных наук, физической культуры и высшей школы. Включены статьи ведущих и молодых ученых ВГМУ и специалистов практического здравоохранения.

УДК 616+615.1+378
ББК 5Я431+52.82я431

© УО «Витебский государственный
медицинский университет», 2012

ISBN 978-985-466-518-4

СВЕТОМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОКРАШИВАНИЯ И МОРФОЛОГИИ МИТОХОНДРИЙ ГЕПАТОЦИТОВ БЕЛОЙ КРЫСЫ И ЧЕЛОВЕКА

Лебедева Е.И., Грушин В.Н., Кичигина Т.Н., Борисов В.А., Rogoznaya Е.Я.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Актуальность. Митохондрии представляют собой органеллы общего значения, которые производят и запасают энергию, а также вовлечены в широкий спектр клеточных процессов, таких, как сигнализация, дифференциация, смерть, регуляция клеточного цикла и рост. Печень занимает третье место по содержанию митохондрий в организме, уступая лишь бурой жировой, нервной и сердечной ткани [1]. Для выявления митохондрий используются различные методы диагностики: генетический, клинический, биохимический, в том числе и морфологический. В гистохимии описаны специальные методики, выявляющие митохондрии, однако среди существующих методик нет наиболее доступных и простых, которые были бы адаптированы под современные методы исследования. Вместе с этим, отсутствуют практические разработки, в которых бы упоминалось о влиянии предварительных этапов приготовления гистологических препаратов, например, фиксирующей жидкости, на выбор специального красителя, выявляющего митохондрии [2].

В связи с этим, целью нашей работы является: определение оптимальной гистохимической методики окрашивания митохондрий, а также изучение морфологии, локализации и количества в печени человека и белой крысы.

Материал и методы. Предварительное условие удачной фиксации состоит в том, что необходимо использовать материал в свежем виде и фиксировать по возможности мелкие кусочки. При изучении митохондрий существенное значение имеет состав фиксирующей смеси. Присутствие в фиксаторе таких веществ, как эфир, хлороформ, уксусная кислота, разрушающе действует на митохондрии. Наиболее пригодны хромовые или хромово-осмиевые фиксаторы. Чаще всего употребляют фиксирующие жидкости без осмиевой кислоты: Кийно, Дюбреля, Рего и Кольстера. При изучении материала желательно сравнить результаты нескольких фиксаторов [2].

Кусочки печени человека и белой крысы помещали в специальные фиксирующие жидкости для выявления митохондрий. Одновременно в работе использовали фиксирующие жидкости Рего и Кольстера в сравнительном аспекте. Были апробированы несколько комбинаций:

1. Фиксирующая жидкость Кольстера - окраска Рего;
2. Фиксирующая жидкость Кольстера – окраска Альтмана;
3. Фиксирующая жидкость Рего - окраска Альтмана;
4. Фиксирующая жидкость Рего - окраска Рего.

При всех методах окраски, для получения удачного результата важно, чтобы срезы были достаточно тонкими, не более 5 мкм.

При окраске железным гематоксилином срезы необходимо протравливать. Нами были приготовлены срезы, которые до окрашивания:

1. Протравливали в 5% растворе железных квасцов в течение 2 суток при комнатной температуре.
2. Протравливали в 5% растворе железных квасцов в течение 24 часов в термостате при 35С.
3. Отбеливали 1% раствором перманганата калия 30 секунд, а затем 5% раствором щавелевой кислоты 30 секунд.

После фиксации в жидкости Кольстера срезы только отбеливали. После депарафинирования и отбеливания срезы, наклеенные на предметные стёкла, окрашивали железным гематоксилином (по методу Рего и по методу Альтмана).

Результаты и обсуждение. В результате исследования установлено следующее. Все комбинации по приготовлению и окрашиванию гистопрепаратов являлись трудоёмкими и требуют точной техники выполнения. Фиксатор по Кольстеру по сравнению с фиксатором Рего проявил себя лучше, так как позволяет затрачивать меньше реактивов, снижать экспозицию окрашивания гистологических срезов и получить более контрастную окраску митохондрий. При обезвоживании препарата замена ксилола на кедровое масло существенных изменений не оказало. При окраске препаратов железным гематоксилином протравливание наклеенных на предметные стёкла срезов можно заменить отбеливанием. Наиболее результативной, доступной и информационной оказалась комбинация фиксирующей жидкости Кольстера-окраска Альтмана, так как она позволяет получить более чёткое изображение на микроскопе OLYMPUS BX41 с программой анализа изображений Image Scope Color.

Наши исследования также показали, что среднее количество митохондрий в клетках гепатоцитов человека составляет 118, максимальное – 163, а минимальное – 69. Полученные данные не совпадали с литературными. В гепатоцитах человека митохондрии были локализованы группами по периферии клетки и вблизи ядра и имели вид зернышек. В молодых клетках митохондрии равномерно заполняли всю цитоплазму. По-нашему мнению, распределение митохондрий связано с функциональным состоянием клетки. Органеллы были расположены там, где возникала потребность в энергии, образующейся в них.

Наши исследования по изучению печени белой крысы отличались от литературных. Среднее количе-

ство митохондрий в клетках гепатоцитов составляет 276 максимальное – 310, а минимальное – 240. В гепатоцитах белой крысы митохондрии были расположены равномерно в виде точек и в форме запятых. Количество митохондрий в гепатоцитах человека в 2,37 раза меньше по сравнению с клетками печени белой крысы.

Выводы. Для оптимального окрашивания митохондрий в гепатоцитах печени человека и белой крысы необходимы следующие условия: быстрое взятие материала, тщательный подбор фиксатора и красителя, точная экспозиция окрашивания и проводки, тонкие срезы, подбор специальных промежуточных

жидкостей. Митохондрии в клетках печени человека и белой крысы имеют свои гистохимические и морфометрические особенности.

Литература:

1. Бакеева, Л.Е. Структура и функции митохондрий / Л.Е. Бакеева // Материалы I Всероссийской конференции «Клинические и патогенетические проблемы нарушений клеточной энергетики». – М. - 1999. – С. 16.

2. Васильев, Ю.Г. Цитология. Гистология. Эмбриология / Ю.Г. Васильев, // СПб.: Издательство Лань.- 2009. – С. 574.

РОЛЬ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В СТАНОВЛЕНИИ СИСТЕМЫ «ПАРАЗИТ-ХОЗЯИН»

Логишинец И.А., Побяржин В.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Актуальность. Характер взаимодействия организма с окружающей средой и его результат определяется не только силой и свойствами фактора, но, главным образом, состоянием самого организма, его реактивными способностями и защитно-приспособительными возможностями, настройкой его регуляторных и эффекторных систем. В полной мере это относится и к реализации антигенного стимула. Полнота, совершенство иммунитета зависят в значительной степени от состояния организма и его реактивности, контролируемой нервной и эндокринной системами [1].

По данным литературы [7] заболевания щитовидной железы принадлежат к наиболее часто встречающимся поражениям эндокринной системы. Высокий процент тиреопатологий в Республике Беларусь связан с недостатком йода в окружающей среде. Недостаточное поступление йода в организм приводит к нарушению гомеостаза и развитию йоддефицитных состояний, сопровождающихся изменением структуры щитовидной железы и изменением уровня секретируемых ею гормонов. Увеличение частоты заболеваний щитовидной железы наблюдается также в регионах, неблагоприятных по радиационной обстановке [6]. Тиреоидные гормоны способны модулировать иммунологическую реактивность организма [8] и тем самым влиять на исход взаимоотношений в системе «паразит-хозяин».

Учитывая высокое распространение аскаридоза в Республике Беларусь, особенно среди детей, а также рост среди населения заболеваний щитовидной железы [4], целью настоящего исследования было изучение выживаемости личинок аскарид при гипер- и гипотиреоидном статусе хозяина.

Материал и методы. Опыты проводились на 240 крысах-самцах линии Wistar массой 150-200 гр. Жи-

вотные были разделены на шесть групп. Крысы первой группы служили интактным контролем, животные второй и третьей групп – контролем на введение трийодтиронина и мерказолила. У крыс четвертой – шестой групп моделировали миграционный аскаридоз путем введения *per os* по 50 инвазионных яиц *Ascaris suum* на 1 г массы животного в 1 мл 2% крахмального геля. Гипертиреоз (2 и 4-я группы) воспроизводили с помощью трийодтиронина (0,5 мкг на 100 г массы тела 1 раз в три дня в течение месяца). У крыс 3 и 5-й групп моделировали гипотиреоз путем введения мерказолила (1,2 мг на 100 г массы тела ежедневно в течение трех недель). Животные шестой группы не получали препаратов и служили контролем на инвазию. Забор материала для исследования осуществлялся на 5, 7, 10 и 14-е сутки после заражения. Крыс вскрывали и определяли количество личинок аскарид в легких с помощью метода Бермана. Концентрацию тиреотропного гормона гипофиза, трийодтиронина и тироксина в крови определяли радиоиммунным методом, используя наборы реактивов «РИА-ТТГ», «РИО-Т3-ИПР», «РИО-Т4-ИПР» производства ИБОХ НАН Беларуси. Полученные данные обработаны методами вариационной статистики.

Результаты и обсуждение. Введение животным трийодтиронина в течение месяца вызвало состояние экспериментального гипертиреоза. Концентрация трийодтиронина в сыворотке крови гипертиреоидных крыс возросла в 1,5 - 1,6 раза по сравнению с показателями контрольной группы. Содержание тироксина снизилось почти в 2 раза по отношению к интактному контролю. Наблюдалось также достоверное снижение уровня тиреотропного гормона гипофиза на 55-60% по сравнению с интактными животными.

У животных, получавших мерказолил, отмечалось достоверное снижение концентрации тироксина